

Potensi Ekstrak Selaput Biji Kesumba (*Bixa orellana* L.) sebagai Obat Antiinflamasi

The Potency of Bixa orellana Seedcoats Extract's as Antiinflammation Drug

Atina Husaana^{1*}, Suparmi²

ABSTRACT

Background: Bixin is an orange-yellow carotenoid derived from the outer seed coats of annatto (*Bixa orellana* L.), which antioxidant activity. However, the use of this colorant in drug potency as antiinflammatory have been explored yet. The effect of crude extract from the outer seed coats of annatto on the inflammatory was investigated to determine its antiinflammation potency.

Design and Method: This study was post test only control group design. Twenty four mice is selected randomly then divided into four groups, K.I (extract 0.09 mg), K.II (extract 0.18 mg dose), K.III (aspirin 90 mg), and K.IV (CMCNa 0.125%). Oedema volume was measured before injection karagenin 1%, two, 2.5, three and four hours after injection karagenin. The mean reduction in inflammation were tested by one way anova and pos hoc LSD.

Result: Greatest reduction in inflammation indicated by K.III (0.100 ml), then in K.II (0.067 ml), K.I (0.072 ml), and lowest in K.IV (-0.017 ml). Differences in the reduction of inflammation significantly different between K.I and K.II K.IV; and K.III whereas no signigicant difference was found between K.I and K.III K.II.

Conclusion: The extract of the outer seed coats of annatto (*Bixa orellana* L.) have antiinflamantory activity in mice that was induced by karagenin 1% (*Sains Medika*, 4(2):134-141).

Key words: outer seed coats of annatto, antiinflammatory, antioxidant

ABSTRAK

Pendahuluan: Bixin merupakan pigmen karotenoid pada selaput biji kesumba keling (*Bixa orellana* L.) dengan kisaran warna kuning-oranye. Pigmen ini terbukti memiliki aktifitas antioksidan, akan tetapi potensi pigmen bixin sebagai bahan antiinflamasi belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak selaput biji kesumba terhadap inflamasi tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi dengan karagenin 1%.

Metode Penelitian: Penelitian eksperimen ini menggunakan subjek uji tikus putih jantan galur wistar yang dipilih secara random sebanyak 24 ekor dibagi empat kelompok, yaitu: K.I (ekstrak dosis 0,09 mg), K.II (ekstrak dosis 0,18 mg), K.III (aspirin 90 mg), dan K.IV (CMCNa 0,125%). Volume oedem diukur sebelum injeksi karagenin 1%, setelah injeksi karagenin dua, 2½, tiga dan empat jam. Rerata pengurangan inflamasi diuji dengan *one way anova* dan uji lanjut LSD.

Hasil Penelitian: Pengurangan inflamasi terbesar ditunjukkan oleh K.III (0,100 ml), berikutnya K.II (0,067 ml), K.I (0,072 ml), dan terendah pada K.IV (-0,017 ml). Perbedaan pengurangan inflamasi berbeda bermakna antara K.IV dengan K.I dan K.II; serta K.III; sedangkan perbedaan tidak bermakna ditemukan antara K.I dengan K.II dan K.III.

Kesimpulan: Ekstrak selaput biji kesumba memiliki aktifitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin 1% (*Sains Medika*, 4(2):134-141).

Kata kunci : ekstrak selaput biji kesumba, antiinflamasi, antioksidan

PENDAHULUAN

Obat golongan AINS (Antiinflamasi Non Steroid) maupun AIS (Antiinflamasi Steroid) merupakan obat yang biasa digunakan sebagai antiinflamasi. Akan tetapi penggunaan obat-obatan tersebut menunjukkan berbagai efek samping seperti tukak lambung, dispepsia, penyakit kardiovaskular, cushing, osteoporosis, menghambat pertumbuhan,

1 Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

2 Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

* E-mail : atinahussaana@yahoo.com

immunosupresif dan *moonface* pada wajah (Esvandiary, 2002; Tjay dan Kirana, 2007). Aspirin atau asam asetilsalisilat (asetosal) merupakan salah satu obat AINS yang banyak digunakan sebagai analgetik, antipiretik, dan antiinflamasi, dimana dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping (Esvandiary, 2002).

Iritasi lambung merupakan masalah yang sering terjadi dalam pemakaian AINS (Kee dan Hayes, 1996). Munculnya efek samping akibat penggunaan obat antiinflamasi terkait dengan aktifitas AINS dalam menghambat prostaglandin dengan memblokir enzim cyclo-oxygenase (COX). Sejumlah efek samping berkaitan dengan penghambatan sintesa prostaglandin terutama terjadi pada lambung-usus, ginjal, dan fungsi trombosit. Efek samping muncul seiring dengan peningkatan dosis dan lama penggunaan (Tjay dan Raharja, 2007). Oleh karena itu, diperlukan eksplorasi tanaman obat sebagai alternatif AINS yang aman.

Kesumba keling (*Bixa orellana* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang telah lama dikenal dan digunakan oleh sebagian besar masyarakat Indonesia untuk pengobatan dan kesehatan. Seluruh bagian tanaman *Bixa orellana* L. termasuk daun, biji, bunga, buah, dan akar telah dimanfaatkan sebagai ramuan obat tradisional. Selaput biji *B. orellana* L. mengandung pigmen utama dari golongan di-apo karotenoid dengan komposisi bixin ($C_{25}H_{30}O_4$) sebesar $83,41 \pm 4,54\%$ (Suparmi *et al.*, 2008a,b). Sifat antioksidan bixin diduga dapat mendukung potensi sebagai antiinflamasi.

Kesumba keling (*Bixa orellana* L.) telah dimanfaatkan untuk mengobati oedem atau penyakit beri-beri (Hariana, 2008). Serbuk biji telah digunakan sebagai terapi herbal untuk mengurangi inflamasi pada manusia (dewasa) yaitu 5-10 mg dua kali sehari (Raintree Nutrition Inc, 2010). Reddy *et al.* (2005) telah meneliti tentang penghambatan relatif dari peroksidasi lipid, enzim COX, dan proliferasi sel tumor manusia dengan bixin pada tanaman kesumba yang bersifat inhibitor COX-1 dan COX-2. Penghambatan pada enzim COX menyebabkan prostaglandin tidak terbentuk sehingga inflamasi dapat berkurang (Ikawati, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak selaput biji kesumba terhadap inflamasi pada tikus putih jantan galur wistar.

METODE PENELITIAN

Subyek penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar sebanyak 24 ekor yang diambil secara random dengan kriteria: umur 2-3 bulan, berat badan 200-250 gram, dan sehat

(tidak cacat secara fisik, lincah dan banyak gerak). Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta.

Ekstraksi biji kesumba (*B. orellana* L.) dengan cara maserasi dimana sebanyak 200 g dilarutkan dengan aseton, kemudian ditambahkan CaCO_3 sebagai agen penetral dan asam askorbat sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi. Setelah itu dimaserasi menggunakan *magnetic stirer* selama 1 jam. Ekstraksi dilakukan dalam ruang gelap untuk menghindari terjadinya oksidasi atau degenerasi enzimatis. Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas saring *Whatman* No. 42, residu yang diperoleh diekstraksi kembali dengan pelarut yang sama sampai semua pigmen terangkat (biji menjadi tidak berwarna). Ekstrak pigmen hasil filtrasi selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh disimpan ke dalam botol sampel dan dikeringkan dengan dialiri gas N_2 (Suparmi *et al.*, 2008). Ekstrak kasar selaput kesumba keling atau disingkat EK diberikan ke hewan coba dilarutkan dalam CMC Na 0,125%.

Tikus dikelompokkan menjadi 4, yaitu: Kelompok I (K.I) diberi EK dosis 0,09 mg, Kelompok II (K.II) diberi EK dosis 0,18 mg, Kelompok III (K.III) kelompok diberi aspirin 90 mg, dan Kelompok IV (K.IV) sebagai kelompok kontrol negatif diberi CMC Na 0,125%. Semua tikus diberi tanda pada mata kaki sebelah kanan sebagai batas pengukuran pencelupan. Volume oedem diukur dengan menggunakan pletismometer. Telapak kaki tikus yang telah ditandai sebatas mata kaki dicelupkan (sampai ke tanda) ke dalam air raksa pada alat pletismometer, yaitu $\frac{1}{2}$ cm dari telapak kaki tikus.

Inflamasi didefinisikan sebagai volume oedem yang ditimbulkan akibat injeksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml pada subplantar kaki tikus. Parameter inflamasi adalah volume air yang naik pada pletismometer yang dimasuki kaki kanan tikus yang bekerja berdasarkan hukum Archimedes (Esvandiary, 2002). Volume oedem diukur sebelum (T0) dan dua jam setelah injeksi karagenin 1% (T1), serta 2,5 (T2); tiga (T3), empat (T4), dan 5 jam (T5) setelah pemberian berbagai bahan uji. Rerata pengurangan inflamasi antar kelompok dianalisis dengan uji *one way anova* dan uji lanjut *least square determinant* (LSD).

HASIL PENELITIAN

Pemberian karagenin 1% pada kaki tikus menyebabkan terjadinya inflamasi. Hal ini ditandai dengan peningkatan volume oedem setelah dua jam injeksi (T1) dibandingkan dengan sebelum diinjeksi (T0). Pada jam ke-3, 4, dan 5 volume oedem kaki tikus cenderung menurun, kecuali pada kelompok kontrol negatif (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata volume oedem per waktu pengukuran antar kelompok

Kelompok	Volume oedem per Jam Pengukuran (ml)					
	0	2	2.5	3	4	5
K.I	0,39±0,04	0,82±0,03	0,89±0,03	0,83±0,02	0,81±0,03	0,75±0,03
K.II	0,37±0,03	0,82±0,07	0,85±0,07	0,82±0,08	0,80±0,08	0,76±0,08
K.III	0,33±0,04	0,86±0,06	0,85±0,07	0,84±0,09	0,82±0,07	0,76±0,05
K.IV	0,36±0,03	0,84±0,06	0,86±0,04	0,87±0,05	0,85±0,05	0,86±0,08

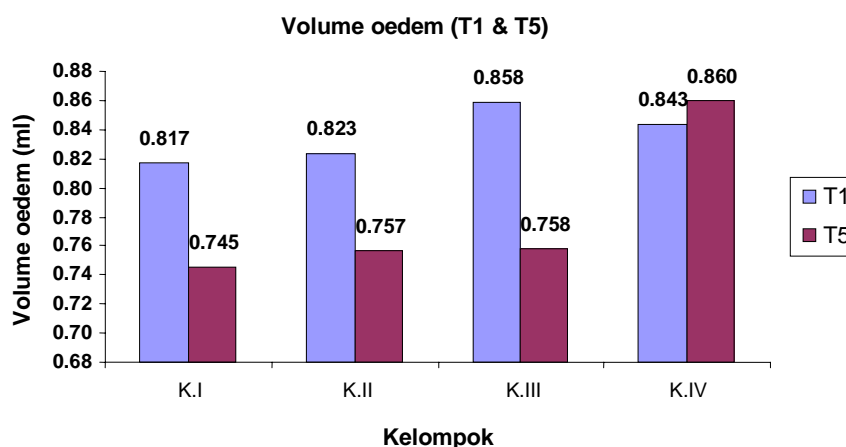
Volume oedem pada pengukuran sampai 2,5 jam terlihat mengalami peningkatan. Penurunan volume oedem pada pengukuran jam ke-5 lebih tinggi dibandingkan pada volume oedem pada jam-jam lainnya, sehingga dilakukan penghitungan selisih volume oedem antara data pada jam kelima ini dengan volume oedem setelah 2 jam tikus diinjeksi karagenin 1%.

Selisih volume oedem atau pengurangan inflamasi (T1-T5) digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak selaput biji kesumba terhadap inflamasi yang terjadi pada kaki tikus karena injeksi karagenin 1%. Rerata pengurangan inflamasi antar kelompok perlakuan ditunjukkan Tabel 2. Rerata pengurangan inflamasi tertinggi terdapat pada K.III, berikutnya pada K.I, dan K.II, sedangkan pada K.IV masih tampak terjadi inflamasi (volume oedem pada T5 lebih tinggi daripada T1) (Gambar 2).

Tabel 2. Rerata selisih volume oedem T1-T5 (pengurangan inflamasi)

Kelompok	Pengurangan inflamasi (ml)
K.I	0,072 ± 0,038 ^a
K.II	0,067 ± 0,056 ^a
K.III	0,100 ± 0,042 ^a
K.IV	-0,017 ± 0,029 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$)



Gambar 2. Perbandingan Pengurangan Inflamasi (T1 dan T5) antarkelompok perlakuan

PEMBAHASAN

Injeksi karagenin 1% menyebabkan inflamasi pada kaki tikus karena terjadi reaksi lokal cedera yang dilakukan oleh mikrosirkulasi (pembuluh darah) dan mengandung leukosit (Subarnas, 2009). Pada proses pembentukan oedem, karagenin akan menginduksi cedera sel dengan dilepaskannya mediator yang mengawali proses inflamasi. Oedem terjadi akibat terlepasnya mediator inflamasi seperti: histamin, serotonin, bradikinin, dan prostaglandin. Oedem yang disebabkan oleh injeksi karagenin diperkuat oleh mediator inflamasi terutama prostaglandin E-1 (PGE1) dan prostaglandin E-2 (PGE2) dengan cara menurunkan permeabilitas vaskuler. Penurunan permeabilitas vaskuler menyebabkan protein-protein plasma bergerak menuju ke jaringan yang luka sehingga terjadi oedem (Siswanto dan Narulita, 2005).

Volume oedem pada kelompok kontrol negatif lebih besar dibandingkan dengan volume oedem pada kelompok yang telah diberi aspirin 90 mg. Hasil ini terjadi karena karena aspirin sudah diakui sebagai standar ukur bagi semua agen-agen antiinflamasi. Aspirin merupakan penghambat non-selektif kedua isoform COX. Aspirin menghambat COX secara irrevesibel, dan bahkan dosis rendah bisa efektif dalam keadaan tertentu, misalnya penghambat agregasi platelet. Selain mengurangi sintesis mediator-mediator eiconasoid, aspirin juga mempengaruhi mediator-mediator kimia dari sistem kallikrein. Sebagai akibatnya, aspirin menghambat melekatnya granulosit pada vasculature yang

rusak, menstabilkan lisosom, dan menghambat migrasi leukosit polimorfonuklear dan makrofag ke dalam daerah inflamasi (Ganiswara, 1995).

Pemberian ekstrak selaput biji kesumba keling terbukti memiliki efek antiinflamasi. Kemampuan ekstrak selaput biji kesumba sebagai antiinflamasi dalam penelitian ini karena dalam ekstrak selaput biji kesumba terdapat bixin dan norbixin. Efek antiinflamasi ekstrak selaput biji kesumba keling diduga akibat aktifitas antioksidan bixin dan norbixin. Hasil ini mendukung studi *in vivo* yang telah dilakukan oleh Reddy *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa bixin bersifat inhibitor COX-1 dan COX-2. Penghambatan pada enzim COX menyebabkan prostaglandin tidak terbentuk sehingga inflamasi dapat berkurang (Ikawati, 2010). COX-1 selalu ada dalam tubuh secara normal digunakan untuk membentuk prostaglandin yang dibutuhkan untuk proses-proses normal tubuh, antara lain memberikan efek perlindungan terhadap mukosa lambung. COX-2 adalah enzim yang terbentuk hanya pada saat terjadi inflamasi/cedera, menghasilkan prostaglandin yang menjadi mediator nyeri/inflamasi (Ikawati, 2010).

Efek antiinflamasi yang ditimbulkan oleh ekstrak selaput biji kesumba 0,09 mg/ekor/hari relatif sama dengan efek antiinflamasi dari ekstrak selaput biji kesumba 0,18 mg/ekor/hari dan efek antiinflamasi dari aspirin 90 mg. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak selaput biji kesumba 0,09 mg/ekor/hari bersifat sebagai antiinflamasi.

Penelitian ini telah berhasil menunjukkan manfaat ekstrak selaput biji kesumba sebagai antiinflamasi, namun masih ada keterbatasan yaitu efek antiinflamasi ekstrak selaput biji kesumba baru dapat diamati pada jam ke-5 karena volume oedem pada K.IV belum turun. Keterbatasan lain yaitu tidak dapat mengetahui zat aktif dalam ekstrak selaput biji kesumba yang berperan sebagai antiinflamasi karena bixin dan norbixin dalam ekstrak selaput biji kesumba ini masih tercampur dengan zat-zat aktif lain.

Terdapat kendala dalam penelitian ini, antara lain: pada saat pemberian perlakuan, dimana tikus yang digunakan bersifat hiperaktif sehingga peneliti menemui kesulitan pada saat akan menyuntikkan karagenin 1% pada kaki tikus. Kaki tikus banyak gerak ketika dicelupkan ke dalam alat pletismometer, sehingga berpengaruh terhadap pencatatan volume oedem kaki.

KESIMPULAN

Ekstrak selaput biji kesumba keling berpengaruh terhadap penurunan inflamasi pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi dengan karagenin 1%.

Saran

Perlu penelitian lanjut menggunakan isolat murni dari bixin dan norbixin sehingga diketahui zat aktif yang berperan dalam antiinflamasi.

Ucapan terimakasih

Penelitian ini didukung oleh Dana Penelitian Internal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dengan Nomor Kontrak: 01/P-UNG/UPR-FK/VII/2012; 02/P-UNG/UPR-FK/VII/2012; 03/P-UNG/UPR-FK/VII/2012, Tanggal 27 Juli 2012. Terimakasih kepada M.Bahrudin Agus selaku pengoleksi data.

Daftar Pustaka

- Esvandary. J. 2002. Efek Analgetik dan Efek Anti Inflamasi Beta Karoten Pada Mencit, http://www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/jeanne.pdf. Diakses tgl. 10.11.2011.
- Ganiswara. S. 1999. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV Cetak Ulang. Jakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia : 249.
- Hariana, A., 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya 2*. Jakarta. Penebar Swadaya; 49-51.
- Ikawati, Z., 2010, *Cerdas Mengenali Obat*, Yogyakarta. Kanisius: 24.
- Kee, J.L. dan Hayes, E.R. 1996. *Farmakologi: Pendekatan Proses Keperawatan*, Jakarta. EGC,.
- Raintree Nutrition, Inc., The Healing Power of Rainforest Herbs. 2010. <http://www.rain-tree.com/book2.htm>. Diakses tgl. 10.06.2010.
- Reddy MK, Alexander-Lindo RL, Nair MG. 2005. Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *J Agric Food Chem*. Nov 16;53(23):9268-73.
- Siswanto, A., dan Nurulilta, N.H., 2005. Daya Antiinflamasi Infusa Daun Mahkota Dewa pada Tikus Putih Jantan. Prosiding Seminar Nasional TOIXVI, Batu, 15-16 Maret 2005.
- Subarnas, 2009, Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun sirih Merah (Piper Betle Var. Rubrum) Pada Tikus Putih Jantan, <http://farmasi.unpad.ac.id/farmaka/v5n1/usi.Pdf>, dikutip tanggal 1-12-2011.

- Suparmi, B. Prasetyo, L. Limantara, 2008. Kandungan dan isolasi pigmen pada selaput biji kesumba (*Bixa Orellana* L.): Potensinya sebagai pewarna alami makanan, *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Agroindustri Berbasis Sumberdaya Lokal Untuk Mendukung Ketahanan Nasional*, Malang: 55-69.
- Tjay, T.H., R. Kirana. 2007. *Obat-obat Penting (Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya)*. Edisi V, Cetakan Pertama Agustus 2007. Jakarta, PT. Elex Media Komputindo: 330.